

А. Н. ХАНАЙЧЕНКО*, С. А. ПУЛЕ**

РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ *CALANUS HELGOLANDICUS*
(COPEPODA: CALANOIDEA) ИЗ ОСЕННИХ ПОПУЛЯЦИЙ ЛА-МАНША

Репродуктивная активность самок *Calanus helgolandicus* из последовательных временных серий планктонных ловов в западной части Ла-Манша (48° 45' с.ш. и 3° 58' з.д.) в поздне-осенний период 2000 г. была практически прекращена и не восстанавливалась при избыточном питании примнезиофитовыми микроводорослями *Isochrysis galbana*. При переводе на питание *ad libitum* динофлагеллятами *Prorocentrum minimum* (PRO) и криптофитовыми *Rhodomonas baltica* (RHO) от 55 % (начальных серий) до 20% (конечных серий) от общей совокупности самок возобновляли репродуктивную активность в течение 2-5 сут и достигали максимумов плодовитости < 10 яйца.самку⁻¹ сут⁻¹ (PRO) и < 8 яйца.самку⁻¹ сут⁻¹ (RHO) на 4 - 10 сут питания в зависимости от серии. Доля жизнеспособных яиц у самок *C. helgolandicus*, питавшихся динофлагеллятами (60 - 89%), превышала таковую при питании криптофитовыми (25 - 63%) при близких значениях совокупной продукции яиц. Низкая репродуктивная активность каланусов при оптимальном питании, предположительно, связана с длительным предшествующим периодом субоптимального питания популяций каланусов в осенний период.

Одним из основных биотических факторов, определяющих воспроизводство естественных популяций копепоид, являются сезонные изменения состава фитопланктонного сообщества. Динофлагелляты, примнезиофитовые и криптофитовые, наряду с диатомовыми, являются естественными составляющими морского фитопланктонного сообщества атлантических вод [1, 2, 8, 9], в том числе в районе Ла-Манша [8, 11]. Все три группы микроводорослей входят в состав пищевого спектра копепоид [12, 18], в частности рода *Calanus* [7]. Динофлагелляты, важнейшие компоненты в рационе копепоид [3], иногда доминируют не только при летних, но и при осенних цветениях микроводорослей, с частым превалированием *Exuviaella cordata* (= *P. minimum*), до 2×10^3 - 2×10^4 кл.мл⁻¹ [4, 19], и характеризуются высоким содержанием и пропорцией высоконенасыщенных жирных кислот (ВНЖК) докозагексаеновой (ДГК) - 22:6n-3 и эйкозапентаеновой (ЭПК) - 20:5n-3 [20]. Криптофитовые, являясь практически постоянной частью фитопланктонного сообщества (численность рода *Rhodomonas* может достигать $1,3 \cdot 10^5$ кл.мл⁻¹ [1], составляя в водах Ла-Манша до 20% от всех микроводорослей [7]), обнаруживаются в желудках *C. helgolandicus* методом HPLC, хотя обычно не регистрируются при применении других методов из-за легко разрушаемой при фиксации оболочки. Криптофитовые характеризуются более высоким содержанием широкого спектра аминокислот по сравнению с гаптофитовыми, диатомовыми и зелеными [15], и суммарных ВНЖК при преобладании ЭПК над ДГК в жирнокислотном составе [20]. Результаты недавних полевых и лабораторных исследований подтвердили значительную роль этих микроводорослей в питании, росте и воспроизводстве копепоид как родов *Acartia* [18] и *Pseudocalanus* [12], так и рода *Calanus* [8].

Целью настоящей работы была оценка состояния репродуктивного потенциала самок *Calanus helgolandicus*, одного из массовых в Атлантических водах вида каланоидных копепоид, из естественных популяций в осенний период при питании *in situ*, а также оценка в экспериментальных условиях влияния вероятного временного избыточного питания каланусов микроводорослями массовых групп фитопланктона (гаптофитовыми, криптофитовыми и динофлагеллятами) на репродуктивные характеристики самок: суточную плодовитость или скорость продукции яиц и их выживаемость.

Материал и методы. Для оценки репродуктивного потенциала *C. helgolandicus* половозрелых самок отбирали из проб, собранных зоопланктонной сетью с диаметром ячеи 500 мкм косым ловом в горизонте 20 - 0 м в западной части Ла-Манша (48°45' с.ш. и 3°58' з.д.) в октябре - ноябре 2000 г. (временные серии 23.10, 25.10, 29.10, 3.11, 6.11, 8.11, 14.11, 17.11 и 22.11 2000 г.). Для определения плодовитости самок распределяли по 6 экз. (в 3 повторностях) в кристаллизаторы объемом 300 мл. Суточную плодовитость

- ЕР, яйца.самку⁻¹.сут⁻¹ - определяли как суммарное количество яиц, отложенных в расчете на одну самку в течение 24 ч. Подсчет оплодотворенных яиц производили трижды за 24-часовой интервал, и перемещали их для выклева по 10 экз. в контейнеры объемом 2 мл, определяя количество жизнеспособных (VE) и нежизнеспособных (NVE) яиц.самку⁻¹.сут⁻¹. Жизнеспособность яиц (VE%) оценивали по доле науплиев NI без аномалий по стандартной методике [13]. В течение первых 24 ч определяли репродуктивный потенциал самок при питании *in situ*, инкубируя животных в естественной морской воде, очищенной через фильтр с размером пор 0,22 мкм. Для оценки пролонгированного эффекта диеты на изменение репродуктивных характеристик самок после 24 ч инкубации в фильтрованной воде переводили на питание моноспецифическими культурами микроводорослей, разбавленными стерильной морской водой, с ежесуточной сменной культуральной среды. Эксперимент проводили в течение 7 - 14 сут в зависимости от физиологического состояния животных, варьировавшего от серии к серии. Выборки самок из серий 23.10, 25.10 и 29.10 переводили на питание Prymnesiophyceae *Isochrysis galbana* var. *tahitiana* (4,6 мкм), в дальнейшем - ISO, а выборки самок из серий 3.11, 6.11, 8.11, 14.11, 17.11 и 22.11 - на питание Cryptophyceae *Rhodomonas baltica* (7,5 мкм) - RHO - и Dinophyceae *Prorocentrum minimum* (18 мкм) - PRO. Микроводоросли культивировали на стандартных средах K и f/2 [17] и использовали во время экспоненциальной фазы роста. Пробы фитопланктона просчитывали в счетной камере Тома под микроскопом. Исходные концентрации микроводорослей составляли: ISO - 10⁵ клмл⁻¹, RHO - 5х10⁴ клмл⁻¹ и PRO - 10⁴ клмл⁻¹. Эксперименты проводили при стандартной температуре 13,5±0,5°C, и фотопериоде и освещенности, соответствующих естественным условиям.

Результаты и обсуждение. Наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в исследованном районе с середины октября по конец ноября 2000 г. воспроизводство *C. helgolandicus* было полностью прекращено. Только калянусы из серии 6.11 отложили при питании *in situ* незначительное количество (1,2 яиц.самку⁻¹.сут⁻¹) нежизнеспособных яиц (рис., s611), которые судя по содержанию незначительного количества фекальных комков, питались взвесью детрита и бактериальными комками в отсутствии альтернативного корма [3].

При переводе на избыточное питание в лабораторных условиях самки калянуса интенсивно потребляли все три вида микроводорослей, что подтверждалось большим количеством фекальных пеллет, варьирующих в среднем 47 ± 11 самку⁻¹.сут⁻¹, независимо от вида. Тем не менее, на протяжении 7-суточного питания *ad libitum* ISO ни одна из самок серий 16.10, 18.10, 23.10 и 25.10 не приступила к размножению. Последующее содержание на данной диете было прекращено ввиду ее неэффективности. Репродуктивная активность половозрелых самок *C. helgolandicus* из последующих серий 3.11 - 17.11 восстанавливалась, в зависимости от серии, через 2 - 5 суток питания как динофлагеллятами, так и криптофитовыми (рис. s311 - s1711). Процент самок, которые приступали к откладке яиц, варьировал в пределах 40 - 55 % от общей совокупности самок из естественной популяции. Начиная со второй половины ноября (серия s1711), репродуктивная активность восстанавливалась лишь у очень незначительной части самок (менее 20 %), среднесуточная плодовитость которых не превышала 4 яиц.самку⁻¹.сут⁻¹ на любой диете. Репродуктивная активность самок из серии s2211 не восстанавливалась на протяжении 7 сут избыточного питания ни криптофитовыми, ни динофлагеллятами.

Ранее было показано, что для *C. helgolandicus* из весенне-летних популяций наиболее оптимальными диетами являются PRO и ISO, обеспечивающие стабильную высокую скорость продукции, более 20 самку⁻¹.сут⁻¹ жизнеспособных (> 90%) яиц [13, 14]. Тем не менее, репродуктивная активность самок *C. helgolandicus* из поздне-осенних популяций не восстанавливалась при питании ISO. Ранее уже было отмечено, что ISO, в отличие от PRO, не восстанавливает репродуктивную активность самок после питания суб-оптимальными смесями микроводорослей [14], и наши данные подтверждают ту же закономерность. Вполне допустимо, что низкое содержание ЭПК в липидном составе ISO [18] и более низкое содержание аминокислот [15], по сравнению с PRO, не позволяет восстанавливать нормальный процесс вителлогенеза у самок *C. helgolandicus*,

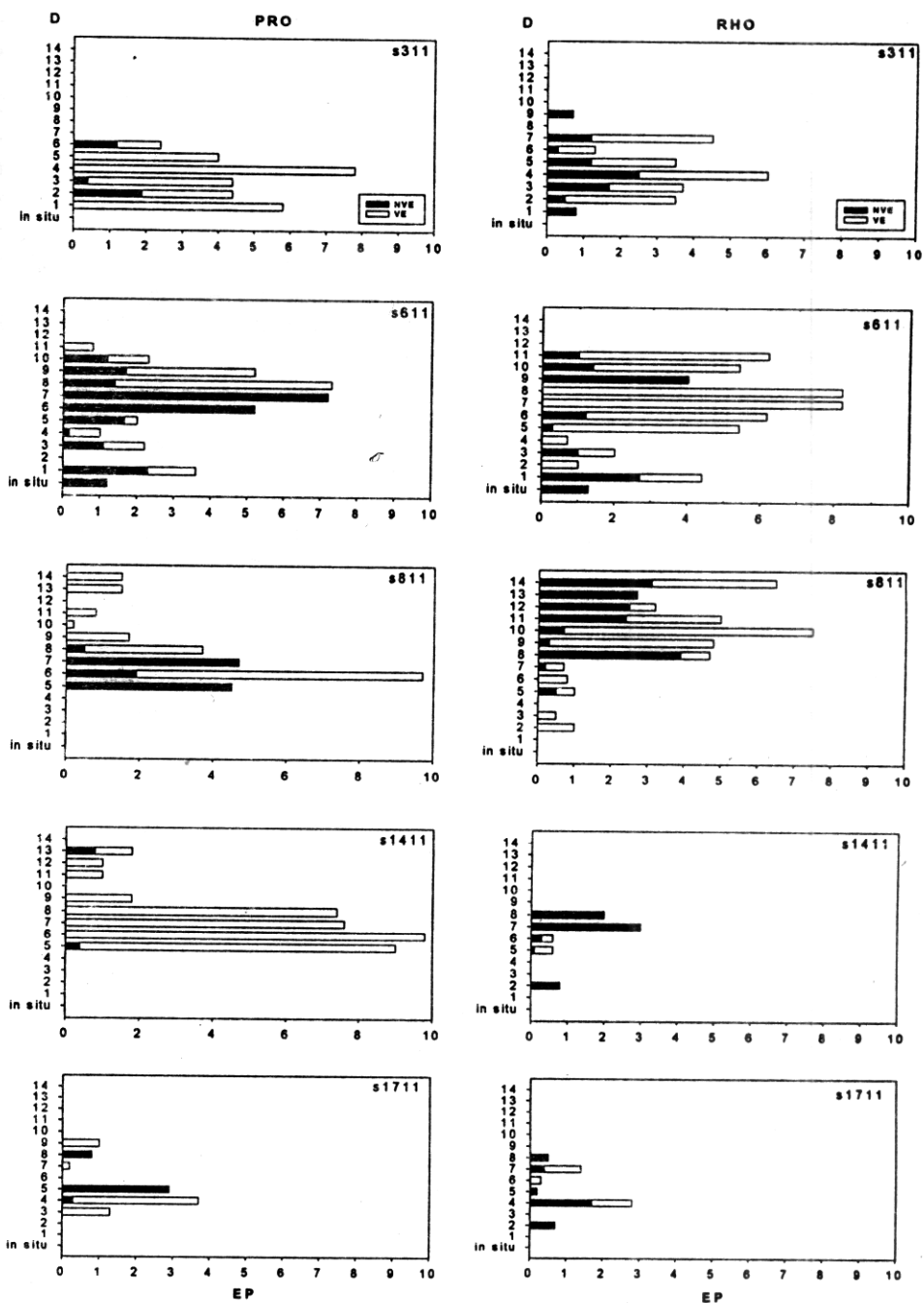


Рисунок. Продукция яиц, EP, яйца.самку⁻¹.сут⁻¹ (жизнеспособных - VE - и нежизнеспособных - NVE - яиц) *C. helgolandicus* при питании *in situ* и при *ad libitum* *Prorocentrum minimum* (PRO) и *Rhodomonas baltica* (RHO). Длительность экспериментального питания, D, сут.

Серии: s311 - серия самок, отловленных 3.11.2000 и т. д.

Figure. Egg production EP, eggs.female⁻¹.day⁻¹ (viable - VE - and non-viable - NVE - eggs) of *C. helgolandicus* females fed *in situ* and *ad libitum* microalgae *Prorocentrum minimum* (PRO) и *Rhodomonas baltica* (RHO). Duration of experimental feeding, D, day.

Time series: s311 - collected 3.11.2000, etc.

очевидно, длительное время питавшихся. Неудовлетворительное физиологическое состояние большого числа (варьирующего от серии к серии) самок, инфицированных бактериями и грибами (неопубл. данные), косвенно также подтверждает это.

Несмотря на индивидуальные различия величин скорости продукции и жизнеспособности яиц для самок внутри каждой серии при питании обоими видами микроводорослей, на протяжении всего рассматриваемого периода наблюдали общие тенденции к увеличению временных интервалов от начала питания самок *ad libitum* до начала откладки яиц и суммарной продукции яиц (за исключением s611). Репродуктивные параметры калянусов этой серии отличались от остальных более высоким значением суммарной продукции яиц - 52 и 37 яиц/самку⁻¹ при 77 и 41 % жизнеспособных яиц при питании PRO и RHO, соответственно (рис.). За экспериментальный 14 суточный период для самок из разных серий суммарная ЕР варьировала при питании PRO в пределах 10-40 яиц/самку⁻¹ при доле жизнеспособности яиц - 90 - 60 %, а при питании RHO - ЕР варьировала от 6 до 38 самку⁻¹.сут⁻¹ при варьировании VE% в пределах 63 - 40 %. При питании PRO самки быстрее достигали максимальных для каждой серии, за исключением серии 1711, значений ЕР, составлявших ($7,8 \pm 1,1$; $8,2 \pm 8,2$; $9,7 \pm 6,3$; $9,8 \pm 9,8$; $3,7 \pm 2,1$ яиц/самку⁻¹.сут⁻¹), при более высокой жизнеспособности яиц (100 %, 100 %, 83 %, 85 %, 92 % для последовательных серий 3.11, 611, 8.11, 14.11, 17.11, соответственно), но раньше снижали скорость продукции по сравнению с самками, питавшимися RHO.

Более длительное восстановление репродуктивной активности калянусов при питании RHO по сравнению с PRO, вероятно, связано с необходимостью более длительной адаптации их ферментативной системы к криптофитовым, несмотря на присутствие у калянусов ферментов, необходимых для переваривания крахмала [6], основного запасного вещества криптофитовых [13]. Наши предположения подтверждаются тем, что в начале перехода калянусов на питание RHO их фекальные pellets содержали значительное количество живых клеток, а через неделю экспериментального питания они практически не обнаруживались.

Собственные неопубликованные данные по гистологическому анализу гонад самок *C. helgolandicus* подтверждают, что состояние калянусов во время поздне-осеннего периода близко к голоданию, так как у всех взрослых самок из естественных популяций в яичниках присутствует большое количество ранних безжелтковых ооцитов, в дивертикулах - преимущественно безжелтковые ооциты и незначительное количество раннежелтковых ооцитов, в то время как позднежелтковые ооциты в дивертикулах и яйцеводах не обнаруживаются. Наши данные согласуются с данными других исследователей, определивших, что после двухнедельного голодания в экспериментальных условиях при отсутствии достаточного количества питательных веществ, необходимых для формирования позднежелтковых ооцитов, формирующихся в гонадах за счет экзогенных питательных веществ, у самок калянусов резко сокращается репродуктивная активность (позднежелтковые ооциты полностью резорбируются), которая может восстанавливаться только после длительного полноценного питания, оставаясь тем не менее значительно ниже, чем у самок, питавшихся непрерывно [14, 16].

Анализ собственных и литературных данных по воздействию микроводорослей, принадлежащих к разным классам, на репродуктивную активность *C. helgolandicus*, позволяет предположить, что ДГК в жирнокислотном составе пищи самок ответственна за нормальное развитие эмбрионов, т.е. за их жизнеспособность, а ЭПК определяет плодовитость самок. Если в пище самок копепоид пропорция $1 < \text{ДГК/ЭПК} < 10$ при высоком суммарном содержании ВНЖК (динофлагелляты, *Prorocentrum minimum*), то плодовитость максимальна и жизнеспособность яиц приближается к 90 - 100 %. При снижении пропорции $0,5 < \text{ДГК/ЭПК} \leq 1$ в пище (криптофитовые, *Rhodomonas baltica*) плодовитость высокая, но жизнеспособность яиц снижается. Низкое, близкое к 0, содержание ЭПК в пище, при высоком содержании ДГК и $\text{ДГК/ЭПК} > 10$ (гаптофитовые, *Isochrysis galbana*) при предварительном длительном оптимальном питании, обуславливающим наличие резервных липидов у калянусов (весенне-летние популяции) стимулирует значительную плодовитость и высокую жизнеспособность яиц, но при предварительном длительном суб-оптимальном питании (голодающие поздне-осенние популяции - наши

данные), или питания субоптимальной экспериментальной диетой [14]) репродуктивная активность не восстанавливается.

На основании наших и литературных данных можно заключить, что пополнение естественных популяций *C. helgolandicus* в изученном районе закономерно снижается на протяжении осенних месяцев: так, в течение сентября 1999 г. скорость продукции яиц *C. helgolandicus* составляла $11.8 - 13.1$ яиц/самку⁻¹·сут⁻¹ при низком проценте жизнеспособных яиц $8.1 - 9.7\%$ [6], в середине октября 1998 г. ЕР калянуса приближалась к нулю (1.0 ± 1.3 яиц/самку⁻¹·сут⁻¹) [10], а среднегодовая (по данным 1993 г.) суточная продукция самок не превышала 6.6 ± 7.4 яиц/самку⁻¹·сут⁻¹ [13]. По данным этих авторов, в рационе (определенном по составу фекальных пеллет) калянуса в естественных условиях с октября по ноябрь значительно возрастает доля не-диатомовых микроводорослей и детрита (с 40 до 65 %), незначительно - бактерий (с 10 до 15 %), а доля доля микроводорослей (диатомовых) снижается (с 50 до 20 %).

Наши данные показали, что самки *C. helgolandicus* из осенних популяций продуцировали яйца после 2 - 5 суток избыточного питания, но максимум продукции яиц в течение двухнедельного избыточного питания при концентрации микроводорослей, соответствовавшей оптимальным для воспроизводства калянуса ($6 \mu\text{г}$ хлорофилла "а"·л⁻¹), был значительно ниже средних величин продукции - 28.7 яиц/самку⁻¹·сут⁻¹ [8], и тем более максимальных величин - $40 - 60$ яиц/самку⁻¹·сут⁻¹ калянусов из весенне-летних популяций [14]. Резкое падение репродуктивной активности калянуса определяется, как известно, при снижении в природных условиях концентраций хлорофилла "а" ниже критической концентрации $3 \mu\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$ [8]. Таким образом, можно предположить, что естественные популяции калянуса в этом районе Атлантики, осенью ограничены в адекватном питании и находятся в неблагоприятном физиологическом состоянии, влияющим на их репродуктивные характеристики, которые не восстанавливаются в полном объеме даже при длительном питании высокоэнергетическими динофлагеллятами и криптофитовыми микроводорослями.

1. Бранцева Ю. В. Изменчивость структурных характеристик фитопланктона в Черном море: Автореф. дисс. ... канд.биол.наук. - Севастополь, 2000. - 24 с.
2. Георгиева Л. В., Сеничкина Л. Г. Фитопланктон Черного моря: современное состояние и перспективы исследований // Экология моря. - 1996. - Вып. 45. - С. 6 - 12.
3. Петина Т. С. Трофодинамика копепод в морских планктонных сообществах. - Киев: Наук. думка, 1981. - 245 с.
4. Сеничева М. И. Годичные изменения фитопланктонного сообщества в районе Севастопольского океанариума // Экология моря. - 2000. - Вып. 53. - С. 15 - 19.
5. Ханайченко А. Н. Влияние микроводорослевой диеты на воспроизводство копепод // Экология моря. - 1999. - Вып. 49. - С. 56 - 61.
6. Ханайченко А. Н., Пуле С. А., Канг Х.-Ю. Влияние питания самок *Calanus helgolandicus* (Copepoda, Calanoida) микроводорослями *Emiliania huxleyi* и *Rhodomonas salina* на продукцию яиц и жизнеспособность науплиев // Экология моря. - 2001. - Вып. 55. - С. 63 - 68.
7. Harris R. P., Samain J.-F., Moal J. et al. Effects of algal diet on digestive enzyme activity in *Calanus helgolandicus* // Mar. Biol. - 1986. - 90. - P. 353 - 361.
8. Harris R. P., Irigoien X., Head R. N. et al. Feeding, growth, and reproduction in the genus *Calanus* // ICES J. Mar. Sci. - 2000. - 57, No. 6. - P. 1708 - 1726.
9. Janke J. Dominant species in phytoplankton blooms // ICES Identification Leaflets for phytoplankton. - 1992. - Leaflet N 178.
10. Kang H.-K., Poulet S. A., Lacoste A. et al. A laboratory study of the effect of non-phytoplankton diets on the reproduction of *Calanus helgolandicus* // J. Plankton Res. - 2000. - 22. - P. 2171 - 2179.
11. Klein B., Sournia A. A daily study of the diatom spring bloom at Roscoff (France) in 1985. II. Phytoplankton pigment composition studied by HPLC analysis // Mar. Ecol. Progr. Ser. - 1987. - 37: 265 - 275.
12. Koski M., Klein Breteler W., Schogt N. Effect of food quality on rate of growth and development of the pelagic copepod *Pseudocalanus elongatus* (Copepoda, Calanoida) // Mar. Ecol. Progr. Ser. - 1991. - 70. - P. 169 - 187.
13. Laabir M., Poulet S. A., Ianora A. et al. Reproductive response of *Calanus helgolandicus*. II. In situ inhibition of embryonic development // Mar. Ecol. Progr. Ser. - 1995. - 129. - P. 97 - 105.

14. Lacoste A., Poulet S.A., Cueff A. New evidence of the copepod maternal food effects on reproduction // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. - 2001. - 259. - P. 85 - 107.
15. Martin-Jezequel V., Poulet S. A., Harris R. P. et al. Interspecific and intraspecific composition and variation of free amino acids in marine phytoplankton // Mar. Ecol. Progr. Ser. - 1988. - 44. - P. 303 - 313.
16. Niehoff B. Effect of starvation on the reproductive potential of *Calanus finmarchicus* // ICES J. Mar. Sci. - 2000. - 57, No. 6. - P. 1764 - 1772.
17. Phytoplankton pigments in oceanography guidelines to modern methods. Literature review: Background to modern pigment oceanography. / Eds. Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Wright S.W. UNESCO Publishing: 1997. - 661 p.
18. Stottrup J. G., Jensen J. Influence of algal diet on feeding and egg production of calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. - 1990. - 141, No 2-3. - P. 87 - 105.
19. Tangen K. Brown water in the Oslofjord, Norway, in September 1979, caused by the *Prorocentrum minimum* and other dinoflagellates // Blyttia. - 1980. - 38, No 3. - P.145 - 158.
20. Zhukova N. V., Aizdaicher N. A. Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae // Phytochemistry. - 1995. - 39, N 2. - P. 351 - 356.

* Институт биологии южных морей НАН Украины
Севастополь, Украина

** Биологическая станция Национального Совета
по Научным Исследованиям, Роскоф, Франция
(Station Biologique, CNRS, Roscoff, France)

Получено 07.04.2002

A.N. KHANAYCHENKO*, S.A. POULET**

REPRODUCTIVE POTENTIAL OF LATE-AUTUMN POPULATIONS OF *CALANUS HELGOLANDICUS* (COPEPODA, CALANOIDA) FROM THE ENGLISH CHANNEL

Summary

Reproductive activity of *Calanus helgolandicus* females from subsequent time series of zooplankton catches collected in the English Channel (48°45' N 3°58' W) in the late autumn of 2000 was practically ceased and was not recovered after *ad libitum* feeding on prymnesiophyte *Isochrysis galbana*. From 55 % (earlier series) to 20 % (late series) of the total number of *C. helgolandicus* females caught from wild populations resumed their reproductive activity within 2-5 days of *ad libitum* feeding on dinoflagellates *Prorocentrum minimum* (PRO) and cryptophytes *Rhodomonas baltica* (RHO). Egg production rate reached maximum (for series) values < 10 egg female⁻¹ day⁻¹ (PRO) and < 8 egg female⁻¹ day⁻¹ (RHO) on the 4 - 10 days of feeding. The viability of *C. helgolandicus* eggs also decreased during the studied period, lower with cryptophyte feeding (from 63 to 25 %) than with dinoflagellate feeding (from 89 to 60%). Low egg production and egg viability of *C. helgolandicus* females despite optimal experimental feeding conditions is supposed due to previous long-term sub-optimal feeding pre-history of copepod populations during the fall.